

## 加糖酸乳飲料におけるシヨ糖とタンパク質の 酸分解について

宮本 拓・片岡 啓・中江利孝

(畜産物利用学研究室)

Received October 31, 1979

### Acid-Catalyzed Hydrolysis of Sucrose and Protein in Sweetened Fermented Milk Beverage

Taku MIYAMOTO, Kei KATAOKA and Toshitaka NAKAE

(Laboratory of Animal Products Technology)

On the premise that browning and changes of taste resulting from the prolonged storage of sweetened fermented milk beverage are due to inverted sugar produced by acid-catalyzed hydrolysis of sucrose, we examined acid-catalyzed hydrolysis of sucrose under various conditions in model system.

Acid-catalyzed hydrolysis of protein was also investigated.

The results were as follows :

- 1) Acid-catalyzed hydrolysis of sucrose and protein was affected by temperature, time, acidity and concentration.
- 2) The higher the temperature was, the longer the time of storage was, and the higher acidity was, the faster acid-catalyzed hydrolysis of sucrose and protein was observed. When the concentration of sucrose was high, or the concentration of casein was low, acid-catalyzed hydrolysis was faster.
- 3) Acid-catalyzed hydrolysis of sucrose in sweetened fermented milk beverage was slower than that in model system for buffer action of milk protein.
- 4) We suggest to use sugar of excellent quality, to keep pasteurization time strict, and to refrigerate products to prevent from browning and changes of taste of sweetened fermented milk beverage.

### 結 言

発酵乳の一種である加糖酸乳飲料は、脱脂乳を乳酸発酵したのち、多量のシヨ糖および香料を加えシロップ状にしたもので、我国で開発された独特の飲料である。その消費量は近年著しい増加を示し、これに伴って生産規模、製造技術両面にわたって飛躍的な発展をとげている。しかし一方において製品販路の拡大と流通機構の多様化が進み、また消費形態も種々の変化が起こりつつあり、製造技術あるいは品質管理上新たな課題が提起されている。とくにこの加糖酸乳飲料の流過程や末端消費者に渡った後で、製品が長期間室温で保管されるようなことがあると、その成分上の品質が問題となってくる。

加糖酸乳飲料を長時間室温下に保存したときに起る現象には褐変と呈味の変化が考えられる。これは製造工程中の加熱殺菌や製品を長期間保存したときにシヨ糖が酸分解し、転化糖が生成するためと推定されている。そこで本稿はこのような推論を明確にするために、加糖酸乳飲料に類似した各種の条件下で、シヨ糖の酸分解を経時的に観察するとともに、併せてタンパク質の酸分解についても検討を加えたものである。

## 材 料 と 方 法

## 1. モデル系によるショ糖とカゼインの酸分解の方法

加糖酸乳飲料の製造とその保管の条件を考慮して、ショ糖濃度10%と50%、カゼイン濃度1%と5%の各水溶液に、それぞれの酸度が0.4~2.0%になるようなモデル系供試試料を作成し、Table 1 のような組み合わせでショ糖とカゼインの酸分解を検討した。

Table 1 Method of acid-catalyzed hydrolysis of sucrose and casein in model system

Sample	Concentration	Acidity (%)	Temperature	Time
Sucrose	10%	0.4	Room temp. (15°C)	0~30 day
		0.7		
		1.0		
		1.5	5°C	0~30 day
		2.0		
	50%	0.4	80°C	0~30 min.
		0.7	Room temp. (15°C)	0~30 day
		1.0		
		1.5		
		2.0	5°C	0~30 day
Casein	1%, 5%	0.4	80°C	0~20 min.
		1.0	Room temp. (15°C)	0~30 day
		2.0	5°C	0~30 day

## 2. 加糖酸乳飲料によるショ糖とタンパク質の酸分解の方法

10%還元脱脂乳を90°Cで20分間殺菌し、37°C前後に冷却後、*Lactobacillus bulgaricus* B-1株を2%量接種し、37°Cで48時間培養した。得られた酸度2.58%の発酵乳に乳酸あるいは水酸化ナトリウムを加えて酸度を補正し、それぞれの酸度がその後のショ糖添加後において、0.4, 0.7, 1.0, 1.5および2.0%になるようにした。これらに加温下で等量のショ糖を加えて溶解し、80°Cで20分間保持殺菌したものを加糖酸乳飲料酸度調整品の試料とした。保存温度および保存時間は前述のモデル系の場合と同様に行なった。

## 3. グルコースの定量法

グルコースの定量は glucose oxidase, peroxidase, o-dianisidine からなるグルコース測定用試薬グルコスタット (ウォーシントン社製) を用い、福井の方法<sup>2)</sup> に準じて行なった。すなわち試料を水酸化亜鉛法により除タンパクし、そのろ液2.0ml (グルコース10~100 $\mu$ g含有) に0.2 M 磷酸緩衝液 (pH7.0) 0.5 ml, 0.1 M 硫酸銅溶液0.45 ml および定量試薬2.0 ml を混合し、30°Cに60分間保持したのち、4 N 塩酸1滴を加えて反応を停止し、400 nm で比色する。定量値はFig. 1 の標準曲線より求めた。なお試料中のグルコースを定量し次式より

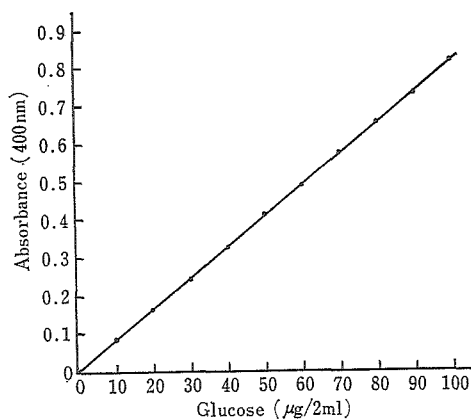


Fig. 1 A standard curve of glucose.

シロ糖の分解度を算出した。

$$\text{シロ糖の分解度 (\%)} = \frac{2 \times \text{グルコース量} \times 0.95}{\text{酸分解前のシロ糖量}} \times 100$$

#### 4. 非タンパク態窒素の定量法

非タンパク態窒素の定量は Rowland の方法<sup>3)</sup>を用い、試料10mlを50mlメスフラスコに入れ、15%トリクロル酢酸を加えて定容とし、そのろ液20mlを分解、蒸留して窒素量を求めた。

#### 5. 薄層クロマトグラフィーによる糖の確認

Pastukaの方法<sup>4)</sup>に準じて行なった。すなわち固定層として Kieselgel G (メルク社製)を0.4mmの厚さに調製したガラスプレートを使用し、展開溶媒としてメチルエチルケトン—酢酸—メタノール (3 : 1 : 1)を用いた。スポットは20%硫酸—0.2%ナフトレゾルシンエタノール溶液 (1 : 1)を噴霧し、105°Cに加熱して呈色させた。スポットの同定は標準物質との比較や文献の Rf 値との比較により行なった。

#### 6. 加糖酸乳飲料による褐色化の観察方法

酸度0.4, 0.7, 1.0, 1.5および2.0%の加糖酸乳飲料酸度調整品を37°Cに保存して、褐色化の程度を肉眼的に観察した。結果はわずかに着色しているものを±とし、褐色化の明らかなものを+とし、その他の場合は—として表示した。

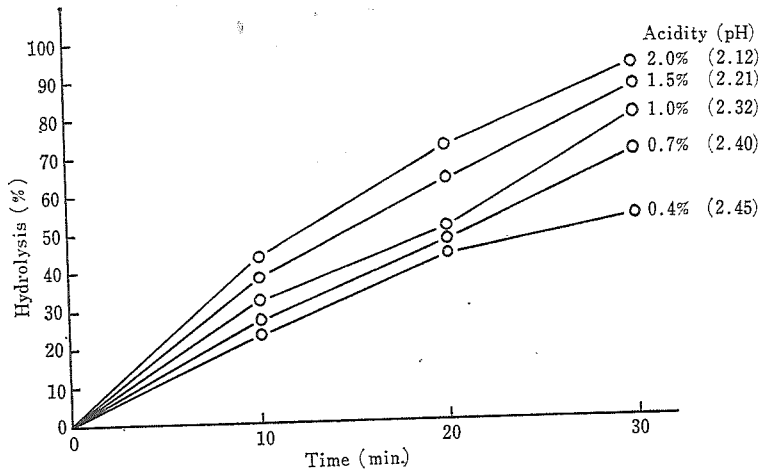


Fig. 2 Effect of heat treatment on acid-catalyzed hydrolysis of 50% aqueous sucrose solution.

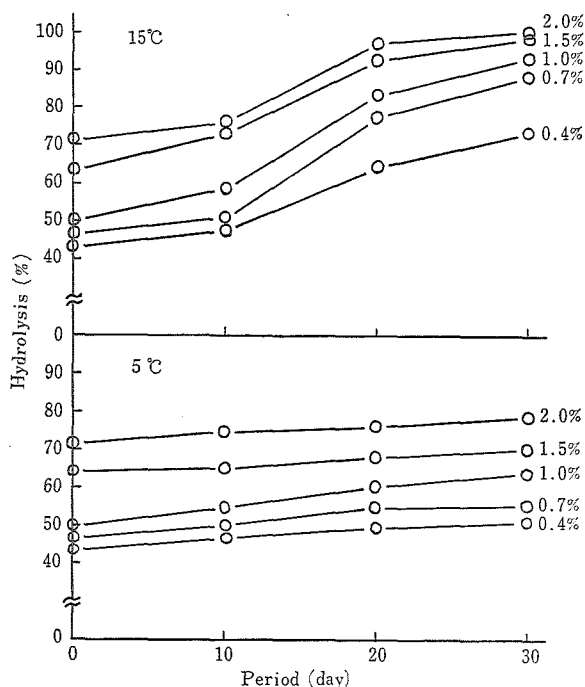


Fig. 3 Acid-catalyzed hydrolysis of 50% aqueous sucrose solution kept at 15°C and 5°C after heat treatment at 80°C for 20 minutes.

## 結果と考察

### 1. モデル系によるシロ糖とカゼインの酸分解

加糖酸乳飲料に相当する50%シロ糖水溶液の各酸度における80°C加熱処理および室温と冷蔵に保存した場合のシロ糖の酸分解を経時的に調べた結果はFig. 2およびFig. 3に示されている。これより製品の製造条件である酸度1%, 80°Cで20分間の保持殺菌により約50%のシロ糖が分解していることがわかった。また各酸度のシロ糖溶液を80°Cで20分間の加熱処理をしたのち室温に保存した場合は、80°Cのときよりもシロ糖の分解はかなり低くなるが徐々に進行し、30日目には酸度1.0%のもので93%となり、10日間に10%以上の割合で分解していることが示された。冷蔵保存のときは、分解がほとんどおさえられ、30日間で数%にすぎなかった。また酸度の高いものほどいずれの保存温度においても分解度は高い値になっていた。

一方比較のために行なった10%シロ糖水溶液では、室温および冷蔵保存の場合、酸度0.7%のもので30日間にそれぞれシロ糖の5.1%および3.4%が分解していた。その他の酸度のもも50%シロ糖水溶液と同様な傾向を示した。しかし10%シロ糖水溶液の方が50%シロ糖水溶液のものよりもその分解度は一般に低い傾向がみられた。これは同一酸度のもので濃度により幾分pHが異なるためと思われる。

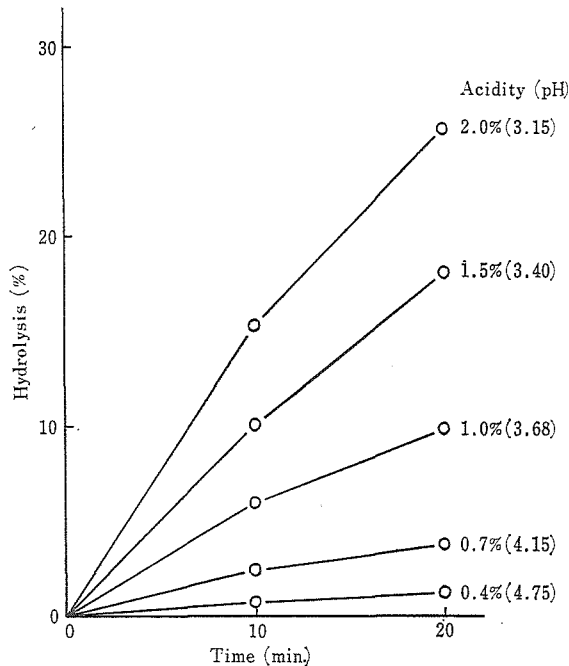
カゼイン1%および5%水溶液における酸分解の結果はTable 2に示してある。これより80°Cのときに非タンパク態窒素の増加量が最も多く、また各酸度のカゼイン溶液を80°Cで

**Table 2** Effect of heat treatment at 80°C for 20 minutes and storage at 15°C or 5°C on acid-catalyzed hydrolysis of 1% and 5% aqueous casein solution

Casein (%)	Acidity (%)	pH	80°C (min.)		15°C (day)			5°C (day)		
			10	20	10	20	30	10	20	30
1	0.4	3.55	3.1	4.3	4.3	4.4	4.5	4.3	4.3	4.3
	1.0	3.05	3.4	4.5	4.7	4.8	5.0	4.5	4.6	4.6
	2.0	2.52	3.6	4.7	4.8	4.9	5.2	4.7	4.7	4.7
5	0.4	3.89	4.2	6.8	7.1	7.6	8.2	6.9	7.1	7.2
	1.0	3.35	4.6	7.7	8.2	8.8	9.3	7.1	8.0	8.3
	2.0	2.91	5.1	8.9	9.4	9.7	9.9	8.8	9.0	9.1

Non-protein nitrogen=N mg/100g

20分間加熱処理したのち室温に保存した場合には、非タンパク態窒素は徐々に増加しており、冷蔵保存の場合にはほとんど変化がみられなかった。一方カゼイン1%と5%水溶液について比較すると、カゼイン5%水溶液の方が非タンパク態窒素の増加量は幾分少なかった。これはpHを比べてもわかるように5%水溶液の方が約0.4ほど高いことに起因するものと考えられる。これらの結果よりカゼイン水溶液の場合もカゼインが多少酸分解し、低分子ペプチドなどが増加し、その結果として非タンパク態窒素が増加するものと思われる。しかしもとの1%カゼイン水溶液の窒素量が157mg/100gであることを考えると、その分解度はかなり低いものである。

**Fig. 4** Effect of heat treatment on acid-catalyzed hydrolysis of sucrose in sweetened fermented milk beverage.

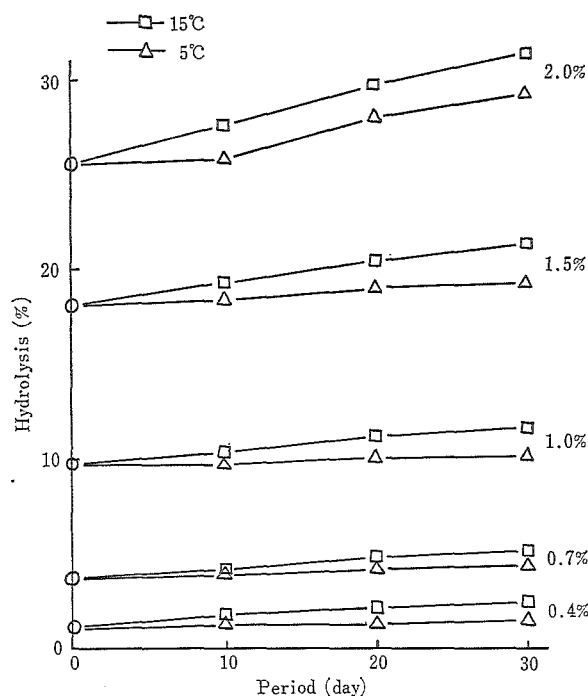


Fig. 5 Acid-catalyzed hydrolysis of sucrose in sweetened fermented milk  
Beverage kept at 15°C and 5°C after heat treatment at 80°C for 20 minutes.

以上、モデル系におけるシロ糖とカゼインの酸分解の結果から、シロ糖およびカゼインの酸分解は温度の高いほど、また加熱時間や保存時間の長いほど速く進行することが示された。温度が一定のときには酸度の高いものほど酸分解が起りやすい傾向があった。またシロ糖の濃度は高いほど酸分解が起りやすく、逆にカゼインの濃度は高いほど起りにくいことがわかった。しかしカゼインの酸分解はシロ糖のそれに比べてかなり弱いものと思われる。

## 2. 加糖酸乳飲料によるシロ糖とタンパク質の酸分解

加糖酸乳飲料酸度調整品の80°C加熱処理および室温と冷蔵保存した時の酸分解の結果はFig. 4とFig. 5に示されている。これより製品の製造条件である酸度1%, 80°Cで20分間の保持殺菌により約10%のシロ糖が分解していることが示された。また80°Cで20分間の加熱処理をした各酸度調整品の室温および冷蔵保存の場合では、酸度1.0%のもので30日間にそれぞれ1.8%および0.4%の分解がみられた。ところでモデル系の場合に比べて、シロ糖の分解はかなり低く、また酸度の違いによって分解度の差が時間の経過につれて大きくなっている。これは同じ酸度のものでもモデル系に比べてpHが高く、しかも酸度が低くなるにつれて調整品とモデル系のpHの差が1.03~2.30大きくなっており、加糖酸乳飲料中の乳タンパク質であるカゼインの緩衝作用によるものと思われる。

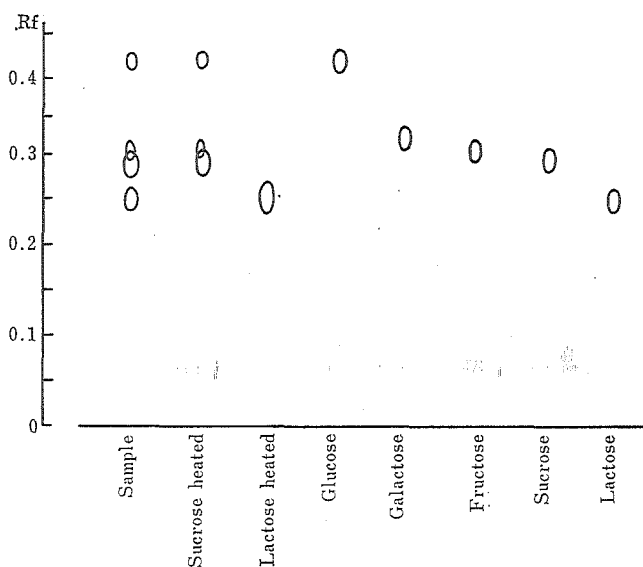
**Table 3** Effect of heat treatment at 80°C for 20 minutes and storage at 15°C or 5°C on acid-catalyzed hydrolysis of protein in sweetened fermented milk beverage

Acidity (%)	pH	80°C (min.)		15°C (day)			5°C (day)		
		10	20	10	20	30	10	20	30
0.4	4.75	16.9	34.5	34.5	35.9	36.8	35.9	36.5	36.7
0.7	4.15	16.5	34.5	34.6	35.1	35.3	35.3	35.7	35.7
1.0	3.68	17.1	35.0	35.6	36.2	36.7	35.7	35.0	35.6
1.5	3.40	16.8	33.7	34.2	35.1	34.3	34.3	35.0	35.9
2.0	3.15	18.3	35.3	35.7	36.4	36.5	36.1	36.8	37.1

Non-protein nitrogen = N mg/100g

一方加糖酸乳飲料酸度調整品の80°C加熱処理および室温と冷蔵保存のときのタンパク質の酸分解の結果はTable 3に示してある。これよりモデル系の場合と同様に80°C加熱処理のときに非タンパク態窒素の増加量が最も多かった。また室温および冷蔵保存のときもモデル系の場合とほとんど同様である。しかし加熱時間および保存時間の延長に伴う非タンパク態窒素の増加量はモデル系のときよりも大きかった。これは乳清タンパク質の酸分解がカゼインよりも起こりやすいことを示唆している。

以上の加糖酸乳飲料酸度調整品におけるシロ糖とタンパク質の酸分解の結果より、実際の製品の場合には、80°Cでの保持殺菌における殺菌時間の厳守と冷蔵保存によりシロ糖の酸分解はかなりおさえることができると思われる。

**Fig. 6** Thin-layer chromatogram of hydrolyzate of sucrose in sweetened fermented milk beverage.

### 3. 薄層クロマトグラフィーによる糖の確認

Fig. 6 は薄層クロマトグラフィーの結果を示したものである。図中左端が実際の製品である加糖酸乳飲料酸度調整品（酸度 1%）の場合で、次の 2 つは 80°C で 20 分間の加熱処理をしたシヨ糖と乳糖の水溶液（酸度 1%）の場合である。その次の 5 つはシヨ糖と乳糖が分解したと仮定して存在すると予想される 5 種類の標準糖液を示す。これより 80°C で 20 分間の加熱処理によりシヨ糖溶液はグルコース溶液と同じ Rf 値にスポットが確認できるため酸分解しているものと思われる。しかし乳糖溶液は同じ処理で乳糖以外の糖が確認できないためほとんど分解していないと考えられる。実際の製品についても 80°C で 20 分間の殺菌処理では乳糖はほとんど分解せず、シヨ糖だけが分解しているものと思われる。

Table 4 Effect of storage time on browning of sweetened fermented milk beverage kept at 37°C

Acidity (%)	Storage time (day)				
	0	10	20	30	40
0.4	—	—	—	—	±
0.7	—	—	—	±	+
1.0	—	—	±	+	+
1.5	—	—	±	+	+
2.0	—	±	+	+	+

± : Slightly browning

+: Browning

### 4. 加糖酸乳飲料における褐色化の観察

Table 4 は加糖酸乳飲料酸度調整品を 37°C に保存した場合の褐色化の程度を肉眼的に観察したものである。これより各種の条件下で褐色化の現象がみられた。ところで牛乳の褐色化反応はタンパク質のアミノ基と還元糖との間に起こるアミノカルボニル反応ともよばれ、足立による詳細な研究<sup>7)</sup>がある。本実験で使用した加糖酸乳飲料酸度調整品における褐色化は、シヨ糖の酸分解によって生じた転化糖に起因しているものと思われる。また褐色化することは味や外観を悪くすることが考えられ、品質保全上褐色化は防止する必要がある。本実験よりその防止策としてシヨ糖の酸分解をできるだけ少なくすること、つまり殺菌などの加熱処理時間や保存日数を最小限にし、保存時は冷蔵することなどが有効と思われる。

### 摘 要

加糖酸乳飲料の長期間保存中におこる褐色化や味覚の変化は、シヨ糖の酸分解による転化糖に起因するものと考え、加糖酸乳飲料に類似した各種の条件下でシヨ糖の酸分解を経時的に観察し、併せてタンパク質の酸分解についても検討を加えた。その結果、次のような結論を得た。

- 1) モデル系によるシヨ糖とカゼインの酸分解は、温度の高いほど、また加熱時間や保存時間が長いほど速く進行する。温度が一定のときには酸度が高いものほど酸分解が起こりやすい。シヨ糖濃度は高いものほど、またカゼイン濃度は低いものほど酸分解が起こりやすい。
- 2) 実際の製品の場合、乳タンパク質の有する緩衝作用のためにモデル系と同じ条件でもその pH がモデル系よりもやや高く、それだけ酸分解が起こりにくい。



3) 製品の品質維持, すなわち褐色化や味覚の変化を防止するためには製造段階において転化糖の含量が多い不純なショ糖を使用したり, グルコースを併用したりせず, 良質のショ糖を使用するのが望ましい。また殺菌時間を最小にして殺菌後すみやかに冷却し, 保存時は冷蔵することが必要と思われる。

#### 文 献

- 1) 足立 達: 農化 33 (9), 809-815 (1959)
- 2) 福井作蔵: 還元糖の定量法, 140-143, 学会出版センター・東京 (1978)
- 3) 乳業技術講座編集委員会: 牛乳・乳製品検査, 97-100, 朝倉書店・東京 (1971)
- 4) 鈴木郁生: 薄層クロマトグラフィーの実際, 128-129, 廣川書店・東京 (1967)